

日本多花紫藤组培快繁技术研究

翁锦周,甘勇辉,林加耕,吴维坚,林江波,张树河
(福建省农业科学院闽台园艺研究中心,福建漳州 363005)

摘要:以日本多花紫藤种子无菌播种小苗茎及落地苗带腋芽茎段为外植体,研究了不同时期在不同培养条件下分生组织的诱导发育情况。结果表明:初代培养的适宜培养基为 MS+ BA 2mg/L + NAA 0.1mg/L+3.5%蔗糖;继代增殖以光强 1500~2000Lx, 温度 (25± 1)°C, pH5.8~6.0, 培养基以 MS+ BA 2mg/L + IBA 0.5mg/L + 3%蔗糖增殖率最高, 25~30d 即可转接继代, 每代增殖倍数为 2.8~3.6 倍;生根培养以 1/2 MS+ ABT 0.5mg/L + IBA0.5mg/L+2.5%蔗糖在光强 1500~2000Lx, 温度(25± 1)°C 条件下, 生根率达 95%以上。同时, 对组培苗假植基质也进行了研究筛选, 以河砂+草炭+谷壳灰=2:1:1 处理效果较好, 移栽成活率达 86.5%。

关键词:日本紫藤;组培;快繁技术

中图分类号:S687.3 **文献标识码:**A

Study on Tissue Culture Propagation in Japanese Wisteria Foribumda

Weng Jinzhou, Gan Yonghui, Lin Jiageng, Wu Weijian, Lin Jiangbo, Zhang Shuhe

(Fujian-Taiwan Horticulture Research Center, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian 363005)

Abstract: Seedling stems with lateral buds were used as explants to study the shoot induction and propagation in Japanese *W. foribumda* under different tissue culture condition. An efficient plant regeneration system from explants of Japanese wisteria has been established in this study. The optimal medium for the induction of multiple shoots at the first stage of culture is MS medium supplemented with BA2mg/L, NAA0.1mg/L, and 3.5% sucrose. High frequency of further multiplication were obtained in the medium of MS containing BA2mg/L, IBA 0.5mg/L, and 3% sucrose (pH 5.8~6.0), under cool white fluorescent light of 1500~2000Lx at (25±1)°C. The proliferation ratio was 2.8~3.6 at intervals of 25~30 days. The rooting rate in the medium of 1/2 MS supplemented with ABT0.5mg/L, IBA0.5mg/L, and 2.5% sucrose could reach over 95%. The regenerated plantlets were transplanted successfully in mixture soil with sand: peat: husk ashes (2:1:1) with survival rate of 86.5%.

Key words: Japanese Wisteria, Tissue culture, Propagation

彩色树种因具有丰富多彩的不同于常规的可供观赏的叶片颜色和鲜艳花朵,在园林绿化、城市美化及提升人居环境质量等方面日益发挥着重要的作用。欧、美、日等发达国家于 20、30 年前在城市绿化方面大量应用彩色树种,装扮“彩色街景”,打造花园城市品牌。是中国曾于 20 世纪 30 年代引进法国梧桐作为行道树并在全国推广。目前,在彩色树种引进利用方面,上海、

北京、大连已走在全国前列。

日本多花紫藤 (*Japanese W. foribumda* 图 1F) 为落叶豆科紫藤属木质藤本,树高 4~5m,树冠扩张、平顶,叶色变化丰富,新叶古铜色或紫色,逐渐变为绿色,秋季则由绿色变为橘红色。晚夏开花,圆锥花序蓝紫色,有清香,先叶开放,耐粗放,较耐寒,耐修剪,对 SO₂ 抗性强。在日本广泛用于亭、榭、棚架栽培,同时也做盆

基金项目:福建省科技厅项目“新型彩色树种日本紫藤组培快繁及产业化示范”(2005D067)。

第一作者简介:翁锦周,男,1964 年出生,1989 年毕业于福建农学院植保系,获农学士,现任福建省农业科学院甘蔗研究所副所长,副研究员,已发表论文 20 余篇,主要从事生物技术在农业上的应用研究。通信地址:363005 福建省漳州市龙文区朝阳镇登科洲福建省农科院甘蔗研究所内。Tel: 0596-2122665, E-mail: scjzhw@yahoo.com.cn。

收稿日期:2005-11-22, 修回日期:2005-11-28。

景、行道树应用。欧、美等国家在城市绿化中喜用亚洲紫藤品种^[1]。中国上海于1999年开始引进日本紫藤。采用播种、扦插、嫁接、压条等传统繁殖方法,速度较慢、效率较低、成本高,特别是种子,每粒需3元以上且发芽率低,远远不能满足极大的市场需求。目前,许多名贵花卉采用组织培养,进行工厂化生产,快速加繁。然而,鉴于该树种组织培养难度大,迄今为止,尚未有本紫藤组培快繁技术研究的文献报道^[2-4],严重影响了该树种的推广应用。笔者从2004年起对日本紫藤外植体的建立、分化、继代增殖及生根、假植等一系列技术进行了系统的研究,以期面向市场、实现该树种产业化快速生产奠定技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2004年1月至2005年5月,在福建省农科院甘蔗研究所组培中心进行试验。以日本多花紫藤种子无菌接种小苗茎段及落地苗幼嫩腋芽茎段作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体建立 取日本多花紫藤落地苗的健壮嫩梢茎段,经自来水冲洗干净,置于超净工作台上用75%酒精浸泡30s,后置于a. 0.1%升汞溶液中浸10~15min; b. 10%次氯酸钙溶液中浸20~25min,再用无菌水冲洗4~5次,以无菌滤纸吸干水分,切取带1~2个腋芽茎段接种于初代培养基上。a、b各处理20瓶,每瓶接1个带腋芽茎段。种子经上述方法消毒,先接种于基本培养基上催芽、培养,后切取上部茎段接种于初代培养基上。

1.2.2 初代培养 初代培养基配方:a. MS+BA2mg/L+NAA 0.1mg/L+3.5%蔗糖;b. MS+BA3mg/L+IBA0.2mg/L+3.5%蔗糖。培养温度(25±1)℃。光照强度1500~2000Lx。

1.2.3 继代增殖培养 继代培养基配方:a. MS+BA1mg/L+IBA0.5mg/L+3.5%蔗糖;b. MS+BA1mg/L+IBA0.5mg/L+3%蔗糖;c. MS+BA2mg/L+IBA0.5mg/L+3.5%蔗糖;d. MS+BA2mg/L+IBA0.5mg/L+3%蔗糖;e. MS+BA1mg/L+NAA0.1 mg/L+3.5%蔗糖;f. MS+BA1 mg/L+NAA0.1 mg/L+3%蔗糖;g. MS+BA2mg/L+NAA0.1 mg/L+3.5%蔗糖;h. MS+BA2mg/L+NAA0.1 mg/L+3%蔗糖。pH值均为5.9,结合添加活性炭等添加物进行配方筛选。光照强度1500~2000Lx,培养温度(25±1)℃。

1.2.4 生根培养 培养基配方:a. 1/2 MS+IBA1mg/L+NAA0.1mg/L; b. 1/2 MS+IBA 2mg/L+NAA 0.1mg/L; c.

1/2 MS+ ABT 0.5mg/L+ IBA0.5mg/L; d. 1/2 MS+ABT1mg/L+IBA0.5mg/L。pH值均为5.9,糖2.0%~3.0%。光照强度1500~2000Lx左右,培养温度(25±1)℃。

1.2.5 生根苗假植 假植基质配方:a. 河沙:草炭:谷壳灰=2:1:1; b. 红心土:草炭:谷壳灰=2:1:1; c. 河沙:草炭=3:1; d. 红心土:谷壳灰=3:1。采用营养杯育苗,每处理假植200株。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理对外植体生长的影响

日本多花紫藤种子经75%酒精浸泡30s后以a(0.1%升汞)、b(10%次氯酸钙)两个方法处理污染率分别为10%和15%,差异不显著,表明两种方法均可采用。带腋芽嫩茎段经75%酒精处理后以0.1%升汞浸泡处理外植体污染率25%,以10%次氯酸钙处理污染率为35%,b处理成功率低于a处理,但其外植体恢复生长快,表明0.1%升汞对嫩茎段消毒效果好,但其毒性较强,初代培养时间约延长12~16d(图1A)。

2.2 初代培养

试验结果表明,a处理培养带腋芽嫩茎段经15d左右腋芽开始萌动,抽出1~2个侧芽小枝,30d左右小枝可长至3~4cm长,每个小枝有3~4节,而b处理抽生侧芽小枝时间长,1个月后腋芽才开始缓慢萌发(图1B)。

2.3 继代增殖培养

剪取小枝茎段继代增殖(图1C),结果表明(表1),处理d. MS+BA2+IBA0.5+3%糖;b. MS+BA1+IBA0.5+3%糖,次其继代增殖过程中单个小枝茎段产生丛生芽较多,每丛有2~4个芽,多的达5个芽以上,平均为2.8~3.6个芽。d处理丛生芽长势好,b处理长势略差。经成对法t测验,d处理优于a处理,差异达显著(t=2.761),比c处理优,差异达极显著(t=4.380)。从继代增殖试验结果看,培养基中生长素添加以IBA培养效果较NAA好,后者在培养过程中较易产生疏松愈伤组织,产生分化芽能力较弱;降低培养基中大量元素及糖浓度有利于继代增殖。

2.4 生根培养

切取继代增殖培养丛生芽中2~3cm左右、带1~2个腋芽小茎段接种到生根培养基(图1D)。结果表明(表2),培养材料接种于生根培养基15~20d,嫩茎段腋芽开始萌发,基部也开始生根。生根率以c处理为最高,达96.7%,其次分别为d、a、b处理。经t测验,c处理与a处理差异达显著(t=2.562),与b处理差异达极显著(t=5.371)。添加活性炭对培养材料生根没有促进

表 1 不同培养基对日本多花紫藤嫩芽继代增殖的影响

处理	增殖方式	增殖芽生长情况	增殖比例 (单芽增殖芽数)	继代时间 (d)
a MS+BA1+IBA0.5+3.5%糖	丛生、单生	较壮	2~4	25~30
b MS+BA1+IBA0.5+3%糖	丛生	较壮	2~4	26~30
c MS+BA2+IBA0.5+3.5%糖	丛生、单生	较壮	2~3	27~32
d MS+BA2+IBA0.5+3%糖	丛生	壮	2~6	25~30
e MS+BA1+NAA0.1+3.5%糖	单生、丛生	弱	1~3	30~35
f MS+BA1+NAA0.1+3%糖	单生、丛生	较弱	1~4	24~28
g MS+BA2+NAA0.1+3.5%糖	单生、丛生	弱	2~4	30~36
h MS+BA2+NAA0.1+3%糖	单生	壮	1~3	30~35

注:每处理 10 瓶, $t_{0.05}=2.262$, $t_{0.01}=3.250$ 。

表 2 不同培养基对日本多花紫藤培养生根的影响

处理	生根数 (条)	根生长情况	生根率 (%)
a. 1/2MS+IBA1mg/L+NAA0.1mg/L	0~3	较粗、较长	87.4
b. 1/2MS+IBA2mg/L+NAA0.1mg/L	0~2	粗、长	73.2
c. 1/2MS+ABT0.5mg/L+IBA0.5mg/L	0~5	较粗、长	96.7
d. 1/2MS+ABT1mg/L+IBA0.5mg/L	0~4	较粗、较长	92.1

注:每处理 20 瓶, $t_{0.05}=2.093$, $t_{0.01}=2.861$ 。

效果,反而有一定抑制作用。

2.5 假植育苗试验

表 3 日本多花紫藤组培苗假植试验结果

处理	新根发出时间 (d)	生长情况	成活率 (%)
a	10~12	快、整齐	86.5
b	13~16	较快、较整齐	77.4
c	12~15	快、较整齐	83.6
d	14~16	较快、较不整齐	66.0

生根苗长成两片完整叶以上,经 7~10d 练苗后进行假植(图 1E)。相对湿度保持 95%以上 7~10d,以遮阳网遮蔽。从表 3 可看出, a 处理效果最好,成活率为 86.5%,发新根较快,生长整齐,其它处理效果依次为 c. b. d 处理。

3 小结与讨论

3.1 两年来探索了日本多花紫藤组培快繁中芽的诱导、继代增殖、促根、假植等技术的研究,成功地建立了

一套较为高效的组培快繁技术体系,即继代周期为 25~30d,增殖倍数 2.8 倍以上或繁殖比例 1:2 万株的组培继代增殖培养基配方,生根率达 96.7%的生根培养基配方及组培苗假植基质比。

3.2 由于日本多花紫藤继代增殖培养材料自身具有一定自养能力,对大量元素、激素(尤其是细胞分裂素)和糖要求降低,相应降低这些成分浓度有利于培养材料的增殖生长。培养基中生长素添加以 IBA 培养效果较好,培养过程中产生愈伤组织少,分化芽能力较强。

3.3 日本多花紫藤在组培中会出现褐化现象,而褐化与光照存在一定的关系,褐化是植物体内的酚类物质合成转化为醌类物质的结果,而酚类物质的合成和氧化相关的酶都是光诱导型的,正常的田间光照下的外植体各种酶活性很高^[9]。因此,有关光照对日本多花紫



图版说明:A.外植体建立;B.初代培养;C.继代增殖;D.生根培养;E.假植苗;F.园林景观。

图 1 日本多花紫藤组培苗繁殖及移栽培养

藤组培诱导的影响有待于进一步的研究。

3.4 日本较早进行紫藤品种收集、鉴定、改良选育工作,品种多。中国进行此方面工作很少。随着植物组织培养和快繁脱毒技术在现代农业优异种苗繁育的广泛应用,日本多花紫藤作为一类新型的优异的城市园林绿化彩色树种,近年来,在上海、江苏等地已供不应求,价格居高不下(30~50cm高的小苗5元/株,3年生高约250cm的100元/株)。因此,通过研究,对于丰富城市绿化树木品种、增添城市彩色景观及推动产业化都将产生积极的影响,具有良好的社会、经济和生态效益,市场前景广阔。

参考文献

- 1 浓荫椿.紫藤.花木盆景[J].花木盆景,2003,(2):38
- 2 黄广礼,黄治化.紫藤的栽培技术[J].云南农业,2003,(2):8
- 3 李万文.紫藤的四大优点.中国花卉盆景[J].2003,(5):22~23
- 4 冯玉元.神奇的紫藤.中国林业[J].2004,(5):41
- 5 Marks T R, Simposn S E. Reduce phenolic oxidation at culture initiation in vitro following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low level of irradiance[J].J Hort Sci,1990,65:103~111

(责任编辑:陶冶之)